

3° Si le réactif a été convenablement préparé, il pourra dissoudre le chanvre, pour M. Trécul comme pour tout autre. Les fibres du chanvre sont entourées d'une cuticule épidermique et reliées par des matières plus ou moins agglutinatives (pectates, substances résinoïdes, sucrées, colorantes ou colorables). Que l'on enlève le tout au préalable, si le rouissage ne l'a déjà fait, et les chanvres doivent être alors solubles entièrement sans résidu. A la page 322 des *Comptes rendus* de l'Académie des sciences, M. Payen dit que les fibres textiles du chanvre se dissolvent promptement et directement; M. Frémy est ici du même avis, et cette prompte solubilité des fibres corticales du chanvre (qu'elles aient été purifiées ou non) est même un argument pour lui contre ceux qui imputent à la présence des corps incrustants l'insolubilité de certaines celluloses réfractaires (1).

SUR L'APPLICATION DES DISSOLVANTS AMMONIACO-CUIVRIQUES DE LA CELLULOSE AUX
ÉTUDES DE PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE, par M. Émile GOUBERT. (Suite.)

Le 24 janvier dernier, la séance de l'Académie des sciences fut plus intéressante encore que les précédentes, au point de vue de l'application aux recherches de physiologie végétale, du réactif ammoniaco-cuivrique simplifié par M. Péligot. M. Frémy lut un remarquable travail sur la composition des cellules des plantes, et souleva, par suite, une vive discussion à laquelle prirent part MM. Payer, Pelouze, Ad. Brongniart et Payen.

Et d'abord, notons quelques observations faites par M. Frémy au sujet de l'action des sels de cuivre sur la cellulose.

M. Péligot avait déjà rendu très facile la préparation du composé ammoniaco-cuivrique de M. Schweizer, en le produisant par l'action directe de l'ammoniaque et de l'oxygène atmosphérique sur le cuivre. M. Frémy a obtenu de même ce réactif en traitant l'oxyde de cuivre hydraté par un excès d'alcali volatil; la liqueur qu'il se procure ainsi agit très convenablement.

Quand on veut obtenir en peu de temps un réactif qui dissolve la cellulose, le procédé de M. Péligot paraît d'ailleurs beaucoup plus simple que celui de M. Frémy, car la formation du bi-oxyde de cuivre hydraté présente quelques difficultés.

Cependant, en étudiant l'action des différents composés de cuivre, on voit qu'ils agissent très différemment sur les membranes végétales.

Le sulfate de cuivre, comme l'hydrate de bi-oxyde de cuivre, dissout instantanément les cellules des plantes.

Les principaux sels de cuivre contenant un acide énergique ne les attaquent pas, mais les gonflent beaucoup et permettent d'y apprécier très facilement, au microscope, certains détails importants.

L'énergie du réactif dépend donc de la nature du composé cuivrique que

(1) Voy. le mémoire que M. Frémy a lu à l'Académie le 7 février 1859.

l'on combine avec l'ammoniaque : en faisant varier ce composé, on obtiendra des liqueurs se comportant de diverses manières sur les tissus dont on doit étudier l'organisme.

Ceci posé, voici l'analyse détaillée de l'intéressante communication de M. Frémy.

La nature des liquides qui se trouvent dans les cellules des plantes a été déterminée avec exactitude ; mais on ne possède que des notions imparfaites sur la composition de la partie insoluble qui forme les parois de ces cellules.

On sait que des corps solides vont se déposer intérieurement sur la membrane cellulaire et augmenter ainsi son épaisseur. Quelques réactifs démontrent que ces couches sont souvent azotées et que souvent aussi leur composition est ternaire. L'insolubilité de ces corps dans les liquides neutres rendait d'ailleurs jusqu'à présent leur séparation impossible et empêchait d'établir nettement leur nature chimique.

L'examen des membranes cellulaires des végétaux présente cependant un grand intérêt, au double point de vue de la chimie et de la physiologie végétale. On voit, en effet, ces membranes éprouver, pendant la végétation, des modifications remarquables : en certains cas, leur épaisseur augmente avec rapidité, et en d'autres elle diminue d'une manière notable.

C'est ce dernier phénomène qui se présente pendant la maturation de presque tous les fruits. Les parois de la cellule d'un fruit vert sont d'abord très épaisses et formées de plusieurs membranes concentriques qui s'amincissent rapidement au moment de la maturité. Cette altération des membranes cellulaires est indiquée par les changements que le fruit éprouve dans sa dureté et sa transparence : elle peut être appréciée rigoureusement par l'analyse.

« J'ai, dit M. Frémy, examiné le péricarpe solide de deux espèces de poires prises à différentes époques de leur développement et de leur maturité. Les nombres que je vais citer démontrent que, dans ces fruits, la proportion de membrane cellulaire éprouve de grandes variations.

	Tissu membraneux d'une	
	Poire d'hiver.	Poire d'été.
16 juin	17,17 0/0	13,4 0/0
24 juin	17,4	13,4
1 ^{er} juillet	14,8	11,0
9 juillet	14,0	11,0
17 juillet	12,5	11,0
26 juillet	9,2	6,7
4 août	6,8	6,0
12 août	4,8	5,1
20 août	3,8	4,4
28 août	3,4	3,5

Des analyses semblables aux précédentes ont été faites sur les fruits qui, comme les pommes, mûrissent quand ils sont détachés de l'arbre, et dont le volume ne paraît pas changer pendant la maturation. Dans ces fruits, le poids des parois cellulaires a éprouvé également une notable diminution à l'époque de la maturité.

Ces changements bien constatés, il restait à chercher quelles étaient les membranes qui, dans les parois de la cellule, pouvaient ainsi disparaître à un certain moment de la végétation.

M. Frémy avait démontré, en 1848, que le tissu des végétaux contient une substance insoluble à laquelle il donne le nom de *pectose*, et qui accompagne presque constamment la cellulose : c'est la pectose qui, se combinant à la chaux contenue dans certaines eaux, durcit les racines pendant la cuisson ; c'est elle qui donne aux fruits verts leur dureté. Sa propriété caractéristique est de se transformer, soit par la coction, soit par la maturation des fruits, soit par l'action simultanée des acides et de la chaleur, en un produit soluble dans l'eau, la *pectine* ou acide *pectique*.

Dès cette découverte, M. Frémy avait été amené à supposer que les membranes altérables et internes des cellules végétales sont formées de pectose, tandis que la membrane externe a pour base la cellulose, qui est caractérisée, comme on le sait, par sa grande fixité.

Il ne suffisait pas de croire, il fallait soumettre à l'épreuve de l'expérience cette hypothèse contraire à l'opinion des botanistes ; mais jusqu'ici les corps gélatineux végétaux n'étaient connus que par les dérivés solubles qui prennent naissance quand les acides ou les alcalis agissent sur la pectose. L'examen microscopique ne permettait pas de les distinguer de la cellulose ni de déterminer la place qu'ils occupent dans la cellule végétale. Il fallait trouver un réactif qui eût la propriété de dissoudre la cellulose et les substances azotées qui l'accompagnent, tout en laissant, à l'état insoluble, et avec sa forme naturelle, le composé pectique qui existe dans la cellule.

En voyant les travaux récents de MM. Schweizer, Schlossberger, Cramer, Péligot et Payen, M. Frémy crut pouvoir s'adresser à cet effet à la nouvelle préparation ammoniaco-cuivrique. L'expérience est venue confirmer ses prévisions et différencier, comme l'habile chimiste le faisait déjà par supposition, la membrane externe d'une cellule d'avec la membrane interne.

Pour déterminer la composition des cellules végétales, M. Frémy a d'abord soin de choisir des cellules qui ne contiennent pas d'amidon, afin d'éviter les réactions secondaires décrites par M. Cramer et rappelées récemment par M. Payen (voir notre dernière communication) ; il coupe alors des tranches minces de la racine ou du fruit examiné, et il les abandonne quelque temps dans la liqueur de M. Péligot.

Les cellules prennent une coloration verdâtre, se gonflent légèrement et semblent se désagréger.

A la demande de M. Frémy, M. Decaisne a cherché à apprécier au microscope les modifications qu'elles avaient alors éprouvées.

Les parois des cellules avaient conservé leur forme, bien que leurs contours fussent plus indécis.

En examinant le liquide ammoniaco-cuivrique qui avait réagi sur les cellules, on y reconnaissait des traces de matières azotées en dissolution, ainsi que toute la cellulose qui formait la première membrane des cellules et le tissu fibreux.

Il est facile de déterminer la proportion de cellulose dissoute, en saturant la liqueur par un acide faible et en lavant le précipité avec une dissolution de potasse étendue.

Quant à la substance verte, insoluble, qui a conservé exactement la forme des cellules, c'est la matière pectique modifiée par l'action du réactif. C'est elle qui se trouvait au-dessous de la membrane extérieure. Elle ne contient plus de cellulose. L'analyse démontre qu'elle est formée de pectate de cuivre. Elle se décolore par l'action des acides qui, prenant le cuivre, donnent un précipité formé d'acide pectique entièrement soluble dans les alcalis, et de traces de sels calcaires.

En faisant donc réagir successivement sur les parois des cellules, le liquide ammoniaco-cuivrique, un acide, et, en dernier lieu, la potasse, on isole, on caractérise, on peut même doser les différentes matières insolubles qui constituaient les membranes végétales.

Le composé ammoniaco-cuivrique qui, tout en dissolvant la cellulose et les corps azotés, transforme la pectose en pectate de cuivre et permet ainsi d'analyser tous les éléments de la cellule, agit dans l'analyse organique immédiate comme la potasse qui, dans une analyse minérale, rend soluble et attaquant par les acides ce qui résistait d'abord aux réactifs.

Les faits signalés par M. Frémy ne laissent aucun doute sur le rôle important des composés pectiques dans l'organisation végétale. Dans certaines cellules, ils incrustent et augmentent l'épaisseur de leurs parois, ils sont souvent plus abondants que la cellulose même.

Ces résultats donnent une nouvelle preuve des services que peuvent rendre les réactifs chimiques dans les recherches d'anatomie végétale.

Mais le nouveau réactif, qui agit si bien sur les parois des cellules d'un fruit ou d'une racine, n'attaque pas toutes les membranes cellulaires, comme M. Payen l'a déjà reconnu (d'après les indications premières de M. Cramer); c'est ainsi que la moelle de certains arbres et le tissu fongueux des Champignons (1) résistent à son action.

En ce cas même il a son utilité, car il démontre que nous donnons à tort le nom de cellulose à des corps qui peuvent avoir la même composition élémen-

(1) Nous avons, de notre côté, cherché à démontrer, par un mémoire présenté à l'Académie le 7 mars, que le tissu subéreux et le tissu fongueux ne sont pas de la cellulose. (Note ajoutée par M. Goubert au moment de l'impression.)

taire, mais qui diffèrent entre eux par leurs propriétés chimiques. M. Frémy est ainsi disposé à admettre aujourd'hui, dans l'organisation végétale, plusieurs espèces de cellulose. Il nous promet, du reste, de revenir prochainement sur ce sujet intéressant (1).

La méthode employée par M. Frémy pour rendre solubles les parois des cellules végétales permettait de rechercher si les produits de cette association sont uniquement la cellulose, la pectine, les corps azotés et des matières minérales.

Cette étude a fait découvrir un corps intéressant, que M. Frémy nomme *acide cellulique*, qui prend naissance lorsque les parois des cellules de fruits ou de racines se désagrègent et qu'elles sont soumises à l'action des acides ou des alcalis.

Cet acide ne dérive ni de la cellulose ni de la pectine, car ces deux corps, purifiés, ne se transforment, sous aucune influence, en acide cellulique.

M. Frémy obtient facilement cet acide en soumettant à l'action de la chaux des pulpes de fruits ou de racines, débarrassées par des lavages de tout principe soluble dans l'eau. Son acidité est comparable à celle de l'acide malique : il forme avec toutes les bases des sels solubles. Il n'est pas volatil; il réduit les sels d'or et d'argent.

Il existe un procédé de fabrication du sucre de betterave, dans lequel la membrane végétale se modifie sous l'action de la chaux, perd son élasticité et donne, par la pression, un jus qu'on travaille aisément. Mais les mélasses conservent une réaction alcaline due à un sel calcaire qui s'oppose à leur cristallisation et leur donne une saveur désagréable. Ce sel est du cellulat de chaux, dont on pourra désormais éviter la formation en modérant l'action de la base sur la pulpe ou en opérant à une température peu élevée.

En résumé, il résulte du travail de M. Frémy que les parois des cellules de fruits ou de racines paraissent constituées par des membranes différentes, bien que l'observation microscopique ne permette pas toujours de les distinguer les unes des autres.

Pour M. Frémy, la membrane externe est formée essentiellement de cellulose; les membranes internes ont pour base la substance pectique. Cette

(1) M. Frémy a tenu son engagement. Le 7 février, il a prouvé que la moelle et le tissu ligneux sont complètement distincts du tissu cellulaire des fruits et des fibres corticales. M. Payen, qui refuse encore de croire caractéristiques ces différences de solubilité directe dans le réactif ammoniac-cuivrique, persiste à en chercher la cause dans la cohésion des cellules, dans leur grandeur, dans leur pénétration de matières étrangères. Il n'en paraît pas moins évident que, sous l'influence de la végétation, il se forme sinon deux espèces isomériques de cellulose, au moins deux sous-espèces, deux états sous-isomériques, comme nous l'avons établi, depuis, dans des communications à l'Académie du 7 et du 28 mars. M. Frémy a montré que les acides, les alcalis et même des agents tout à fait neutres transforment la cellulose insoluble (des moelles et du bois) en cellulose soluble (du tissu cortical et cellulaire). (Note ajoutée par M. Goubert au moment de l'impression.)

dernière est associée, dans la cellule, à un principe nouveau, qui, sous des influences diverses, produit un acide énergique que M. Frémy a nommé *cellulique*.

M. Payer demande alors à l'auteur de cette intéressante communication si le tissu utriculaire examiné était jeune ou vieux. A l'état adulte, en effet, toute la paroi des utricules, pour M. Payer, est homogène et faite de cellulose entièrement. Dans le tissu utriculaire jeune, au contraire, les couches concentriques externes bleussent seules sous l'action simultanée de l'iode et de l'acide sulfurique, tandis que les couches récentes, c'est-à-dire les couches internes, paraissent en effet moins formées de cellulose que d'une matière azotée dont l'existence n'est d'ailleurs qu'éphémère. Si donc, ajoute M. Payer, M. Frémy a pris du tissu adulte, à l'âge où il bleuit tout entier sous l'influence de l'iode et de l'acide sulfurique, il faut admettre que cette dernière réaction n'est plus un caractère distinctif de la cellulose (1) depuis les conclusions de la dernière communication.

Or M. Frémy répond précisément qu'il a choisi des utricules adultes, mais qu'elles ne sont pas homogènes pour lui, et que, partant, la déduction de M. Payer n'a plus lieu d'être. M. Frémy ne garde aucun doute sur la présence de la pectose dans ces tissus âgés, extraits, par exemple, des navets ou des betteraves, car : 1° les acides étendus produisent avec eux de la pectine soluble qui rend l'eau gommeuse, et laissent un résidu de cellulose; 2° les alcalis isolent également la cellulose et s'unissent à l'acide pectique; 3° le réactif ammoniac-cuivrique dissout la cellulose et précipite du pectate de cuivre insoluble.

Revenant, de son côté, à l'une des idées émises par M. Frémy dans son mémoire, M. Pelouze montre que, pour lui également, la cellulose est un corps multiple, et qu'il croit aussi à l'existence de plusieurs celluloses. Il ajoute même aux deux états isomériques admis par M. Frémy dans la cellulose vivante, organisée, deux nouvelles modifications qu'il a trouvées dans la cellulose morte, désagrégée par les réactifs chimiques. C'est ainsi que, n'adoptant pas l'opinion de MM. Péligot et Payen, il pense que la liqueur ammoniac-cuivrique modifie la cellulose. Si l'on met, dans ce réactif, du papier-Berzelius, du vieux linge, du coton, et que l'on précipite la dissolution par les acides, le dépôt ne sera plus de la cellulose pure. La vraie cellulose est, en effet, insoluble dans l'acide chlorhydrique concentré qui dissout très bien le précipité ainsi obtenu (2). M. Pelouze voit donc là un autre état isomérique

(1) Bien que nous soyons ici de l'avis de M. Frémy, nous croyons que la coloration bleue par l'iode n'est pas un phénomène chimique, mais physique, mécanique, peut-être un état de division extrême de l'iode. M. Damour a du reste démontré que l'oxalate de lanthane, sel si ténu qu'un gramme remplit seul un flacon d'un litre, bleuit par l'iode comme l'amidon.

(2) M. Pelouze a, depuis, prouvé que la cellulose est soluble dans l'acide chlorhydrique étendu. (Note ajoutée par M. Goubert au moment de l'impression.)

de la cellulose, ce que j'appellerai une sous-espèce de cellulose. Il y a plus : si, continue M. Pelouze, l'on répète les expériences de Gay-Lussac et de Braconnot, si l'on traite le coton ou le vieux linge par la potasse caustique en fusion, entre 150° et 190°, et si l'on dissout dans l'eau le produit de la réaction, on peut séparer, par les acides, une cellulose qui se change en sucre avec la même facilité et sous les mêmes influences que les deux celluloses précédentes, mais qui en diffère en ce qu'elle est soluble, même à froid, dans une eau alcaline étendue ou concentrée. C'est une troisième sous-espèce de cellulose.

M. Ad. Brongniart pense qu'il y a passage insensible entre la cellulose pure et l'amidon pur. Il rappelle, à ce sujet, la communication que M. Trécul a faite récemment à l'Académie sur l'amidon.

Prenant la parole à son tour, M. Payen combat également l'idée de M. Payer sur l'homogénéité du tissu utriculaire, même adulte. Il parle des matières incrustantes qui se déposent, par couches successives, dans l'intérieur des cellules et des fibres ligneuses. Il rappelle ses recherches sur la présence des pectates et autres composés pectiques entre les cellules qu'ils agglutinent, dans beaucoup de racines, de tubercules et de fruits : si l'on traite successivement ceux-ci par l'acide chlorhydrique et l'ammoniaque étendus, on isole très facilement la pectine. En opérant ainsi sur les épidermes épais du *Cactus Opuntia* ou du *Cereus peruvianus*, la solution alcaline filtrée donne, par les acides, des masses de pectine. Mais M. Payen avoue qu'il n'avait pas vu la pectose dans les cellules, bien qu'il ait observé des composés pectiques entre les cellules ou dans les tissus de diverses Algues, ainsi que de la gélose dans les cellules du *Gelidium corneum*. Il avait même remarqué dans les tubercules des Orchidées une substance gélatiniforme remplissant de grandes cellules et comprimant entre elles des cellules féculifères.

Quant à la cellulose même, M. Payen rappelle qu'il a déjà parlé souvent des états très différents qu'elle affecte, depuis celle qui constitue la cuticule (1), les épidermes et les péridermes d'un grand nombre de plantes, et qui, par sa cohésion, par l'interposition de la silice, des matières grasses et azotées, résiste à l'acide sulfurique concentré, jusqu'à celle qui (dans le mycelium du *Xylostroma* du Méléze) est dissoute directement par l'acide chlorhydrique à six équivalents d'eau, celle qui entoure les pepins de coings et qui affecte une consistance mucilagineuse (2), celle enfin dont les particules sont assez peu agrégées dans divers tissus végétaux pour bleuir directement par l'iode. MM. Nægeli et Cramer ont aussi, continue-t-il, indiqué quelques-unes des formes multiples et isomériques de la cellulose, qui intéressent autant les physiologistes que les chimistes.

(1) M. Frémy croit que la cuticule n'est pas faite de cellulose, mais d'une matière grasse, susceptible de donner, comme le liège, de l'acide subérique par l'action de l'acide azotique.

(2) On pourrait ajouter celle qui se précipite, en certaines circonstances, des dissolutions de sucre traitées par l'acide carbonique.

M. Trécul présente, à la suite de cette communication, les observations suivantes :

En demandant dans la dernière séance à M. Goubert s'il connaissait les circonstances précises de la préparation du réactif ammoniaco-cuivrique par le procédé de M. Péligot, je n'avais point pour but de lui faire une objection, mais de lui demander un renseignement, parce qu'il me semble qu'il ne suffit pas de faire passer de l'ammoniaque sur de la tournure de cuivre pour avoir une bonne préparation ; il faut encore se placer dans des conditions spéciales qui n'ont pas été indiquées, et qui doivent être toujours les mêmes, pour obtenir un liquide constant dans sa composition. En effet, suivant que l'on emploie une petite quantité de cuivre, trente grammes, par exemple, ou que l'on fait usage de cinq cents grammes ou d'un kilogramme de ce métal, la solution doit avoir des propriétés différentes, attendu que dans le dernier cas il y a une beaucoup plus grande élévation de température que lorsque l'on s'est servi d'une petite quantité de cuivre. Je pense que cette température élevée doit déterminer des réactions qui n'ont pas lieu à une température plus basse, et que, par conséquent, la composition du liquide ammoniaco-cuivrique doit varier dans les deux cas.

Il faudrait donc, afin de rendre utile l'emploi du réactif, bien définir les conditions dans lesquelles il doit être préparé pour posséder des propriétés constantes.

Voilà ce que j'ai dit à l'occasion de la communication de M. Goubert. Il paraît que j'ai été mal compris par lui, puisqu'il m'attribue des paroles tout autres que celles que j'ai prononcées. Je n'ai pu dire que j'aie tenu du cuivre plongé dans de l'ammoniaque, que j'aie fait macérer le métal dans le liquide, parce que dans cette circonstance l'oxydation du cuivre par l'oxygène de l'air n'est pas favorisée. Ce n'est en effet qu'au contact de l'air que le cuivre s'oxyde aisément sous l'influence de l'ammoniaque, qui dissout alors l'oxyde formé. Aussi ai-je dit que j'avais placé le cuivre sur un entonnoir, et que j'avais fait passer l'ammoniaque sur le métal ainsi disposé.

M. Reveil est d'avis qu'il faudrait déterminer non-seulement les quantités de cuivre et d'ammoniaque employées, mais encore le degré de concentration de l'alcali et le temps durant lequel la préparation sera exposée à l'air. M. Reveil ajoute qu'il sera difficile d'obtenir une solution de composition constante, et qu'il importe de la conserver dans des flacons toujours pleins.

M. Trécul fait à la Société la communication suivante :